云 南 植 物 研 究 2001，23（4）：488～492
Acta Botanica Yunnanica

栝楼不定根尖分化不定芽过程中的细胞组织学研究*

陈 惠
（山西师范大学生物系，山西 临汾 041004）

摘要：将栝楼（*Trichosanthes kirilowii*）长约 0.5～1 cm 的不定根尖（连同原外植体茎段或根段一起，或不连）培养在 MS 附加 6－BA 5 mg/L 的培养基上光照培养 15 d，可在根尖端分化出大量不定芽。不定根尖培养过程中每隔 2～3 d 取材，用 FAA 固定液固定 1 次。通过石蜡切片观察，将栝楼的不定根尖端分化不定芽的细胞组织学变化分为 4 个时期。1. 启动期（0～3 d），根尖分生组织细胞、中柱鞘细胞起动分裂 。2. "根茎转变区"原形成层形成期（4～6 d）。起动细胞分裂后形成 2～3 层体积小、核大、质浓、近似扁平形的细胞层，组成"杯形"的"根茎转变区"原形成层。3. "根茎转变区"形成期（7～10 d）。原形成层不同部位加速分裂使根尖膨大成半球形、球形或梭形，并在膨大区进行维管组织的转变。4. 芽分化形成期（11～15 d）。原形成层在不同部位向外形成"突起"即 分生细胞团，每个"突起"发育为 1 个芽原基。作者还讨论了栝楼与其它植物根芽产生的异同。

关键词：栝楼；不定根尖端；分化；不定芽；细胞组织学研究

中图分类号：Q 944　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253－2700(2001)04－0488－07

Cyto－Histological Studies on the Adventitious Buds Differentiating from Adventitious Roots Tips of *Trichosanthes kirilowii*

CHEN Hui
(*Biology Department*，*Shanxi Teacher's University*，Linfen 041004，China)

Abstract：About 0.5－1 cm long adventitious root tips (with their plantlets or without) of *Trichosanthes kirilowii* were cultured on MS with BA 5 mg/L for 15 days，they produced numerous adventitious buds. By the paraffin－cut section method，the anatomy of adventitious buds formation was studied and the buds differentiation can be divided into four phases：(1) Initiation phase (0－3 days). Root meristematic cells and pericyclic cells first divided. (2) "The zone of transition from root to shoot "precambium formation phase (4－6 days). The initiation cells divided and formed two or three near flat layers of cells with smaller volumes，bigger necleuses，and denser cytoplasmises. They connected and formed precambium of the transition zone from root to shoot. (3) "The transition zone from root to shoot" formation phase (7－10 days). The precambium cells continualy divided at different place from the tip and made the root apex to expend，and formed half ball or a ball or shuttle in shape. In the meanwhile，root vascular tissues were transforming to shoot vascular tissues within the expanded district. (4) Buds formation phase (11－15 days). The precambium produced many hemishery protuberances at different region and each protuberance produced a bud pri-

*收稿日期：2000－08－27，2001－02－20 接受发表
作者简介：陈惠（1964—）女，山西人，副教授，主要从事植物细胞学研究。

mordia. In addition, the author compared the differences of root buds production between *Trichosanthes krilowii* and other plants.

Key words: *Trichsanthes krilowii*; Adventitious root tip; Differentiation; Adventitous buds; Cyto－histological study; Root buds

栝楼（*Trichosanthes kirilowii* Maxi）是葫芦科的一种草质藤本植物，常用的中草药。作者对其实生苗的多种外植体，如茎段、叶片、子叶等进行过离体培养研究。各种外植体脱分化和分化不定根均很容易，分化出不定芽的只有叶片和不定根尖（陈惠等，1994；1996a），其中不定根尖分化芽频率高达 86.6% 并且发现其分化不定芽的必要条件是培养基中附加 6－BA 2～5 mg/L（陈 惠，1994）。另外，作者通过对不定根尖分化不定芽过程中的扫描电镜观察，发现其不定芽是内起源的（陈惠等，1996b）。本文则通过石腊切片，对不定根尖（0.5～1 cm 长）培养在 MS＋BA 5 mg/L 培养基上（0～15 d）分化不定芽过程中的细胞组织学进行深入研究。以确定栝楼不定根尖端分化芽的起始部位、发育与分化过程。

1 材料与方法

栝楼为临汾当地市售果实，取出其中种子剥去硬种皮，经常规表面消毒后接种于 1/2 MS（只含大量元素）的琼脂培养基上，光照培养（每天光照约 10～12 h）约 20 d 后实生苗长约 10～15 cm，从上截取约 1 cm 长的茎段或根段暗培养在 MS＋NAA 1mg/L 的培养基上 8 d，诱导产生 0.5～1.0 cm 长的不定根，将不定根连同原外植体一起（或切割下来）转移在 MS＋6－BA 5mg/L 的培养基上光培养 0～15 d，在培养过程中每隔 2～3 d 用 FAA 固定液固定 1 次，石蜡包埋，切片厚度 7～10 μm，番红固绿对染，中性树胶封片。

2 观察结果

栝楼不定根尖端分化不定芽过程中其外部形态与内部细胞组织学变化密切相关。根尖端的外形变化，首先是被刺激起动的部位逐渐膨大成半球形、球形或其它形状（作者将其分为 4 种类型，以第一、二类膨大类型为多见，陈惠，1994），然后，在培养的第 14－15 d 在球的远基端表面出现清晰可辩的丛生芽。本文根据石腊切片观察，将不定根尖端分化芽过程中的细胞组织学变化分为 4 个时期：1. 启动期；2. “根茎转变区”原形成层形成期；3. “根茎转变区”形成期；4. 芽分化期，下面分期加以叙述。

2.1 启动期（0～3 d）

栝楼正常根尖结构与其它双子叶植物相似，在纵切面上，可分为根冠区、分生区和伸长区（图版Ⅰ：1）。在伸长区的横切面上，从外至内可观察到层次分明的 3 种组织系统，即表皮层、皮层和维管组织系统（图版Ⅰ：2），中柱鞘细胞是从顶端分生组织以垂周分裂方式形成的单层细胞。在 MS 附加 6－BA 5mg/L 培养基中培养 2～3 d 的根尖端，内部细胞组织结构开始发生变化，从根的分生组织到 1 mm 长的根尖内的中柱鞘细胞被诱导发生分裂，其分裂方向以平周分裂为主，垂周分裂机率变小。皮层细胞和中柱内的细胞的体积显著增大（图版Ⅰ：3～6），从伸长区横切面上也看到 2～3 层体积小、核大、细胞质浓厚的

中柱鞘细胞（图版Ⅰ：7），与正常根尖显著不同。

2.2 “根茎转变区”原形成层形成期（4～6 d）

培养 4 d 的根尖端（图版Ⅰ：8），由于中柱鞘细胞平周分裂机率增大使其衍生成多层体积小、扁平、核大、质浓的原形成层状细胞，同时，生长点细胞也改变了原来的分裂方向和排列方式，与中柱鞘衍生的原形成层状细胞连在一起构成杯形的“根茎转变区”原形成层（图版Ⅰ：8 箭头所指）。至此原来的根尖结构不复存在，不再产生新的根冠、皮层、和表皮细胞。此时根尖外形基本为棒状，4 d 以后原形成层的形状有所差异，原因是原形成层的活动加快部位不同，有的以杯形底部的原形成层（从分生区 0～1 mm 区域）即根尖分生组织衍生细胞分裂加快而成半球形（图版Ⅱ：11）；大部分根尖以杯形底部和靠近底部的原形成层分裂加快，而使根原形成层向球形发育（将来发育为图版Ⅱ：12、13 形状）；还有一部分根尖是远离底部的原形成层细胞分裂加快而引起，如图版Ⅱ的 9 为培养 6 d 的根纵切，由于在离端部 1～2 mm 处的原形成层细胞分裂向内向外（向内为主）增添细胞而使原形成层由“杯形”变成“梭形”，表皮、皮层细胞大多体积增大，有的破裂，细胞间有很大间隙，结构疏松，尤其靠近表面的细胞因间隙大而出现裂口，外观上似白色愈伤组织。极小部分根尖是由距尖端 2～3 mm 处的中柱鞘细胞衍生的“根茎转变区”原形成层细胞分裂加快，仅在此部位膨大，前面的根尖仍完整保留，仍能继续伸长（由于图大而长故略）。

2.3 “根茎转变区”形成期（7～10 d）

在培养的第 7～10 d，“根茎转变区”原形成层细胞不断平周垂周分裂（平周分裂几率大），向内向外（主要向内）增添新的细胞，使根端不同部位的膨大更加明显。在原形成层以内，细胞组织有较大的变化，开始形成许多分生中心，这些分生中心或排列规则内外两轮分布或排列不规则，后来每个分生中心又形成以导管为中心的维管束状结构。图版Ⅱ的 13 为培养 9 d 的根尖纵切，，观察到原形成层细胞分裂使内部细胞增多，“根茎转变区”成半球状，转变区的结构已不同于根中柱，原形成层细胞旺盛分裂的结果使其衍生的细胞形成密集色浓的分生中心，维管束的分化略迟。图版Ⅱ的 12 是培养 7 d 的根尖端，已观察到根中柱木质部在球基部分叉外扭，在中柱顶部也扭曲向周分散。培养 10 d 纵切面（图版Ⅱ：14），球更膨大，球中维管束已有多束分化，培养 10 d 球中部横切（图版Ⅱ：15），可看到两轮典型胡芦科茎的双韧维管束，内轮是根中柱转变而来，外轮是“根茎转变区”原形成层衍生细胞分裂分化而成。在横切面上从根基部——球顶的不同层面上可看到类似于种子苗下胚轴的根茎转变区的情况，（由于版面有限图略）。这些事实说明“根茎转变区”形成了，下连根组织，上将与分化出芽的维管组织相连。

2.4 芽分化期（11～15 d）

主要类型的根端培养到 11～15 d，从切片上看“根茎转变区”顶端或近顶端的原形成层细胞逐渐开始了不定芽的分化。启动分裂位置靠后的根尖的原形成层，由于本身的分裂，被内部的扩增组织推移到边缘部位，此时也开始了芽原基的分化。首先，原形成层细胞在边缘部位逐渐形成许多“突起”，每个“突起”的细胞形成分生组织细胞团（图版Ⅱ：16），继而分化出“原体”、“原套”和叶原基，以后又发育为具顶端分生组织和两个明显叶原基的芽体，穿过原根冠或皮层衍生的薄壁细胞层露出表面（图版Ⅱ：17），随着芽的

进一步发育，基本组织中又分化出维管组织并与“根茎转变区”乃至根中柱的维管组织（后来分化而成）相连（图版Ⅱ：18）。由于各种类型根尖端的启动膨大部位不同，芽分化的位置也有区别。启动分裂位置近分生组织的，芽在球顶呈“米”字型或一二轮发生，使外形如“花盘状”(图版Ⅱ：19)。启动分裂位置略靠后的，芽环状着生在球近顶部或中部，球顶中央无芽的分化，启动分裂位置更靠后者，则芽分化的位置更靠后，有的甚至不分化（陈惠，1994)。

以上研究，说明了栝楼不定根尖端分化芽的比较详细过程，肯定了不定芽的发生是内起源于根尖端的分生组织细胞和中柱鞘细胞。

3　讨论

组成根的各种组织都可能参与不定芽的形成，如表皮、皮层组织、中柱鞘、根尖分生组织、根愈伤组织（陈惠等，1990；Peterson，1975)，但不同植物情况不同。如马铃薯的离体根在含腺嘌呤、IAA 和 GA3 的 MS 培养基上，由根表皮细胞分裂形成不定芽（Espinozo 等，1985)；苹果根上芽发生于近基端皮层周围组织的薄壁细胞（Robinson 等，1977)；田旋花的不定芽起源于中柱鞘（Bonnett 等，1966)；卷柏和雀巢兰的芽由根尖分生组织转变而成（Wahok，1976；Champagnat，1971)。

本文通过石蜡切片，对栝楼不定根尖端分化不定芽的过程进行了详细研究，肯定了不定芽主要起源于中柱鞘，为了叙述方便，作者将其分化发育过程分为 4 个时期：(1）启动期。0.5～1 cm 长的不定根尖在 MS+6－BA 5mg/L 的培养基上培养 2～3 d，根中柱鞘细胞启动分裂，但不同的根尖端启动分裂的部位有所不同（陈惠，1994)。(2）“根茎转变区”原形成层形成期。根尖培养到 4～6 d，由于中柱鞘细胞不断以平周分裂为主进行分裂以及原根尖分生组织改变了原来的分裂方向和排列方式，二者共同构成“杯形”的、由 2～3 层细胞组成的“根茎转变区”原形成层，原形成层细胞的特点为体积小、核大、细胞质浓厚和不断进行细胞分裂。(3)“根茎转变区”形成期。培养的 7～9 d 根尖端能膨大的原因是：1. 第二个时期形成的“根茎转变区”原形成层细胞不断进行细胞分裂，向内向外（主要向内）增加细胞；2. 由“根茎转变区”原形成层所包围的区域进行了以导管为中心的维管组织的分化，以及类似于种子苗根茎转变区的维管组织的转变。雀巢兰的根尖在离体培养条件下，其不定芽分化过程中，原根组织与新分化的芽组织之间也存在“根茎转变区”(Champagnat，1971)，故作者认为凡在根、茎两种器官过渡处，一般会有“根茎转变区”的存在。(4）芽分化形成期。膨大的根端培养到 11～15 d，逐渐开始了芽的分化，这可能与维管组织的发育和积累了一定的营养物质有关，另外，芽着生的位置与中柱鞘细胞启动分裂的部位以及由中柱鞘细胞衍生的原形成层加速分裂的部位有关。

致谢　在本文工作中承蒙广西师大梁倩华教授以及中科院上海植生所李文安、许智宏教授、罗士韦教授的悉心指导。

〔参 考 文 献〕

陈惠，张俊敏，1990．**根芽的起始部位与根的离体培养**［J］．**山西师范大学学报（自然科学版）**，**4**（1）：53—57

陈惠，1994，**栝楼的根段及根尖培养与器官发生**［J］．**山西师范大学学报（自然科学版）**，**8**（1）：50—54

陈惠，梁倩华，1996a，**栝楼组织培养中植株再生研究**［J］．**中草药**，**27**（12）：737—740

陈惠，梁倩华，1996b，**栝楼不定根尖分化芽过程中的扫描电镜观察**［J］．**广西师范大学学报（自然科学版）**，**14**（2）：53—57

Bonnett H T J R，Torrey J G，1966. Comparative anatomy of endogenous bud and lateral root formation in conovolvulus arvensis root cultured *in vitro* [J]. *Am J Bot*，**53**：496—507.

Espinozo N o，Dodds J H ，1985. Adventitious Shoot formation on cultured potato roots [J]. *Plant Science*，**41**：121—124

Peterson R L，1975. The Initiation and Development of Root Buds. In：Torrey J G，Claricson D T eds. The Development and Function of Roots [M]. 126—161

Robinson J G，Schwabe W W，1977. Studies on the regeneration of apple cultivars from root Cattings. I. propagation aspeds [J]. *J Hort Sci*，**52**：206—22

Wahok Z S，1976. Redetermination of cultured root tips to leafy shoots in *Selaginella voilldenovii* [J]. *Plant Science Letters*，**6**：185

Champagnat M，1971. Recherches sur la multiplication vegetative de Neottia nidus – avis Rich [J]. *Ann Sci Nat Bot*，Ser **12**：209

图版说明

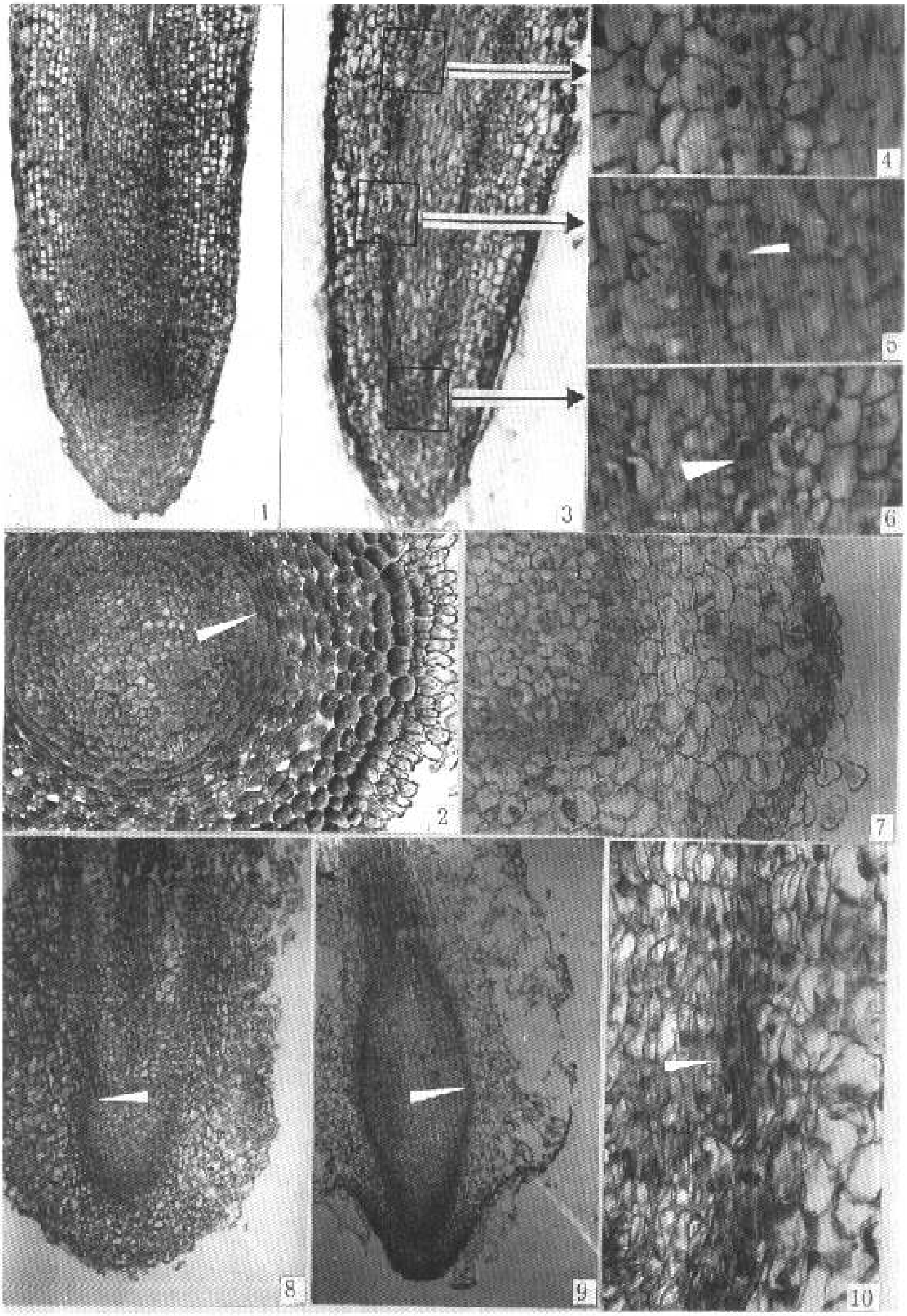
图版Ⅰ 1. **正常根尖 纵切。**（×150）；2. **正常根尖伸长区横切。**（×250）；3. MS **附加** 6–BA 5mg/L **培养基上培养** 2 d **的根尖纵切，示起动期中柱鞘细胞**.（×156）；4～6. **图** 3 **的局部方大，图** 4 **箭头所指为正在进行垂周分裂的细胞，图** 5、6 **箭头所指为正在进行平周分裂的细胞。**（×268）；7. **起动期根尖伸长区横切。**（×260）；8. **培养** 4 d **的根尖纵切，示"杯形""根茎转变区"根尖分生组织及中柱鞘所衍生的原形成层状细胞。**（×100）；9. **培养** 6d **的根尖纵切，示原形成层细胞排列呈"梭形"。**（×50）；10. **图** 9 **的局部放大，示扁平形的原形成层状细胞。**（×260）

图版Ⅱ 11. **培养** 5 d **的根尖纵切，示根尖分生组织细胞起动分裂后的情况。**（×60）；12. **培养** 7 d **的根尖纵切局部。**（×66）；13. **培养** 9 d **的根尖纵切。**（×48）；14. **培养** 10 d **的根尖纵切。**（×44）；15. **培养** 10 d **的根尖，球中部即"根茎转变区"的横切，箭头所指为维管组织。**（×75）；16. **原形成层形成许多"突起"及"突起"上分化出顶端分生组织。**（×55）；17. **已具顶端分生组织和两个叶原基的芽。**（×48）；18. **培养** 15 d **的根尖分化出的芽体中的维管组织与"根茎转变区"及根中的维管组织相连。**（×25）；19. **培养** 15 d **的根尖外形，箭头所指为膨大的根尖顶端分化出的不定芽。**（×1.2）

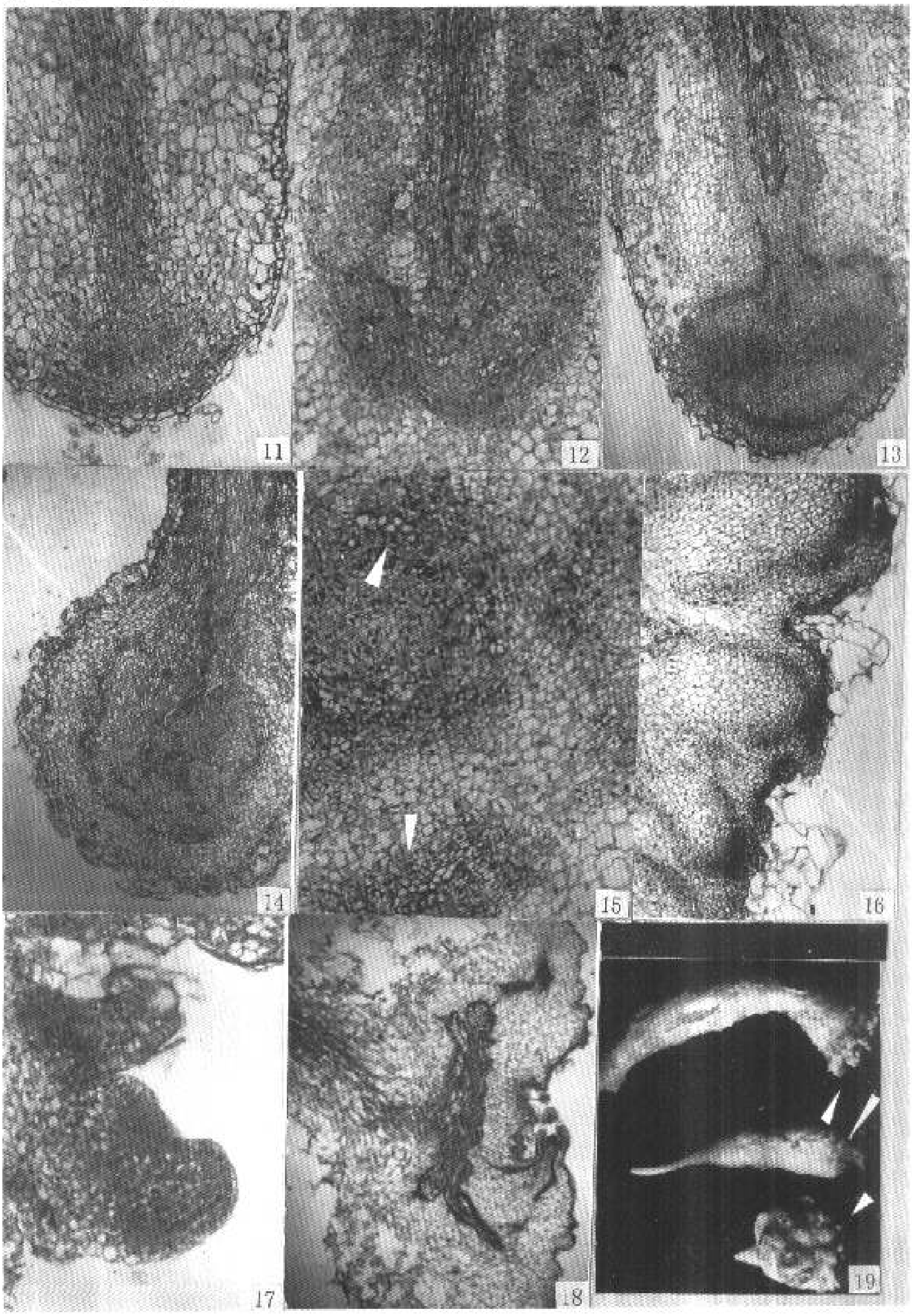
Explanation of Plates

Plate Ⅰ 1. Longitudinal section of formal root tip（×150）；2. Transection of formal root tip（×250）；3. Longitudinal section of root tip which cultured on MS with BA 5mg/L for 2 days，showing the pericyclic cells in the initiation phase（×156）；4–6. A mote highly magnified view of the root tip in Fig. 3，Fig. 5 and Fig. 6 showing that the pericyclic cell is dividing tangentially（arrow），4. Showing the cell is dividing vertically（×200）；7. Transection of root tip′s initiation phase（×260）；8. Longitudinal section of root tip for 4 days culturing，showing precambium（which developed from root meristematic cells and pericyclic cells）in cub shape（×100）；9. Longitudinal section of root tip for 6 days culturing after excision of segment，showing precambium–like cells arranged on shuttle in shape（×50）；10. A more highly magnified view in Fig. 9 showing the prcambium–like cells as plate in shape（×260）.

Plate Ⅱ 11. Longitudinal section of root apex for 5 days after excision（×60）；12. Longitudinal section of root apex for 7 days culturing（×60）；13. Longitudinal section of root apex for 9 days culturing（×48）；14. Longitudinal section of root apex for 10 days culturing（×44）；15. Transection of root for 10 days culturing which is the zone of transition from root to shoot at the middle zone of root tip′s ball，showing the vascular bundles（arrow）（×66）；16. Precambium grew and produced many protuberances（×55）；17. Showing the bud with the meristem and two leaf primodia（×50）；18. Longitudinal section of root tip culturing for 15 days，showing the bud′s vascular tissue connected with the vascular tissue of the zone of transition from root to shoot，even linked with the root vascular tissue（×25）；19. Root tip for 15 days culturing，arrow showing the adventitious buds on the surface of expanded root tips（×1. 2）.



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text